

生体高分子溶液脱塩，溶媒置換用充てんカラム
TSK-GEL BioAssist DSタイプ

取扱説明書



東ソー株式会社

ご使用の前に

- i 本製品を使用する前に、必ずこの取扱説明書をよく読んで理解してください。
 - i この取扱説明書は、手近な所に大切に保管し、必要なときにいつでも取り出せるようにしてください。
 - i 製品本来の使用方法および取扱説明書で指定した使用方法を守ってください。
 - i 本書の安全に関する指示に対しては、指示内容を理解の上、必ず従ってください。
- 以上の指示を必ず厳守してください。
- 指示に従わないと、けがや事故の恐れがあります。

【取扱説明書について】

- i 取扱説明書の内容は、製品の性能・機能の向上により将来予告なしに変更することがあります。
- i 取扱説明書の全部または一部を無断で転載、複製することは禁止しています。
- i 取扱説明書を紛失したときは、弊社営業担当者までお問い合わせください。
- i 取扱説明書の内容に関しては万全を期していますが、万一不審な点や誤り、記載漏れに気づいたときは、お手数ですが巻末の連絡先までご連絡ください。

安全上のご注意

- ご使用の前に、この「安全上のご注意」をよくお読みのうえ、正しくお使いください。
- この項目は、いずれも安全に関する内容ですので、必ず守ってください。
- 「警告」「注意」の意味は次のようになっています。

 警告	取扱いを誤った場合、使用者が死亡または重傷を負う可能性が想定されるもの。
 注意	取扱いを誤った場合、使用者が傷害を負う可能性が想定されるものまたは物的損害の発生が想定されるもの。

ご使用時

 警告
ⓘ火気厳禁 ⓘ引火性のある溶媒を使用する場合、火気の使用は厳禁です。火災、爆発の原因になります。

 注意
ⓘ換気に注意を ⓘ引火性、毒性のある溶媒を使用する場合、十分換気をしないと火災、爆発、中毒の原因になります。
ⓘ液漏れに注意を ⓘ溶媒等の液漏れは、感電、中毒、薬傷、火災、腐食などの原因になります。液漏れの場合は、適切な保護具を付けた上で、液を取り除いてください。

注意

¡保護具の着用を

¡有機溶媒や酸などの溶離液を取扱う場合は、保護メガネ、手袋などの保護具をご使用ください。薬傷を負う恐れがあります。

¡取扱いに注意を

¡取扱いが不適切であると、カラムの性能を損なうことがあります。取扱いには十分注意してください。

¡適切な使用方法を

¡本カラムは分離、精製等に用いるもので、それ以外の目的には使用しないでください。

¡圧力に注意を

¡急激な圧力上昇は、カラムの性能を損なう原因になります。又、カラム材質により破裂、飛散等の可能性があります。規定以上の圧力にならぬように注意してください。適切な保護具を付けた上で、十分注意して作業をおこなってください。

¡分離精製物の取扱いに注意を

¡得られた分離精製物または精製溶液を製品および中間体として使用する場合は、十分にその安全性の確認をおこなってご使用ください。

¡処分には適切な処理を

¡廃棄する場合は、産業廃棄物として適切な処理をおこなってください。

【その他の注意】

- 警告表示ラベルが貼付されている製品は、表示内容を確認し、安全にご利用ください。
- 警告表示ラベルが、汚損または剥離し表示内容がわからなくなった場合には、当社窓口担当者まで申し付けください。貼り替え用ラベルをお送りいたします。
- 本書は大切に保存してください。また、ご利用者が代わる場合には次のご利用者にお渡しください。

取扱い上のご注意（出荷溶媒に関する注意）

応急措置	眼に入った場合	i 流水で15分以上洗眼する。その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるようにおこなう。 i 医師の手当を受ける。
	皮膚に付着した場合	i 水等で洗い流す。
	吸入した場合	i 空気の新鮮な場所に移動しうがいをおこなう。
	飲み込んだ場合	i 口腔を水洗し、医師の手当を受ける。
取扱いおよび 保管上の注意	取扱い時の 保護具	i 取扱いの際は安全メガネを着用する。
	保管温度 条件	i -10～0℃で凍結することがあるので保管温度に注意する。
廃棄上の注意	処分方法	i 一般排水として処分する。

出荷溶媒

・ 蒸留水

取扱い上のご注意（充てん剤に関する注意）

応急措置	眼に入った場合	- i 流水で15分以上洗眼する。その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるようにおこなう。 - i 医師の手当を受ける。
	皮膚に付着した場合	i 水等で洗い流す。
	吸入した場合	i 空気の新鮮な場所に移動しうがいをおこなう。
	飲み込んだ場合	i 口腔を水洗し、医師の手当を受ける。
取扱いおよび保管上の注意	火気等の注意	i 火気の使用を禁じ火花の発生を防止するための防爆工具の使用および接地等をおこなう。
	換気	i 換気設備などで換気する。
	取扱い時の保護具	i 取扱いの際は保護メガネおよび防じんマスクを着用する。
廃棄上の注意	処分方法	i 廃棄する場合は焼却設備等で少量ずつ焼却処分をおこなう。
	一般的な留意事項	i 処分作業は可燃物の取扱いおよび保管上の注意事項に注意しておこなう。
	処分上の注意	i 焼却処分する場合、窒素酸化物ガスが発生するので排ガス対策をおこなう。

☐ 充てん剤；可燃性充てん剤（架橋アクリルアミド重合物）

目 次

1. はじめに	1
2. ご使用の前に	1
3. カラムの種類と性質	1
4. カラムの構成	2
5. 装置へのセットと注意	2
6. カラムの保管方法	4
7. 溶媒の選択	4
8. 使用流速	6
9. 使用温度	6
10. 試料溶液の調製	7
11. 理論段数および非対称係数の測定	7
12. トラブル発生時の処置法	8
13. 品質規格および保証	10
14. おわりに	11

1. はじめに

本TSKgel BioAssist DSカラムは液体クロマトグラフィー用に開発された脱塩用充填カラムです。タンパク質や核酸など分子量約1万以上の生体高分子溶液の溶媒を他の溶媒に置換するために使用します。この高性能カラムの性能を十分に発揮させ、効果的にご使用いただくためには、ご使用の前に取扱説明書を必ずお読みの上、正しくご使用いただきますようお願いいたします。

2. ご使用の前に

まず梱包状態およびカラムの外観に異常はないかご確認ください。つぎに、添付書が入っていますのでご確認ください。

- ・取扱説明書 1 通
- ・検査票 (INSPECTION DATA) 1 通

3. カラムの種類と性質

本TSKgel BioAssist DSカラムは表1に示しますように2種類のカラムサイズが用意されています。

表1 カラム

カラム名称	TSKgel BioAssist DS	
品番／カラムサイズ	21463	4.6mmID×15cm
	21464	10mmID×15cm
カラム材質	PEEK ^{*1}	
基材	架橋ポリアクリルアミド	
粒子径	約15 μ m	
排除限界分子量	約3000(PEG換算) ^{*2}	
出荷時溶媒	水	

* 1 : PEEK…ポリエーテルエーテルケトン

* 2 : PEG…ポリエチレングリコール

4. カラムの構成

カラムの構成を図1に示します。

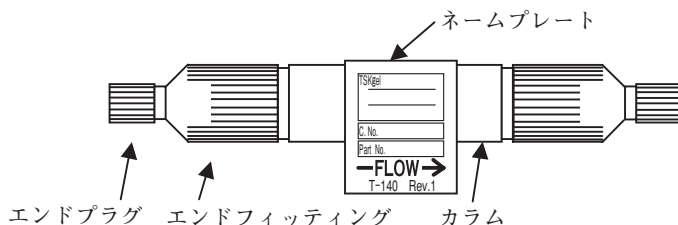


図1 カラム構成図

5. 装置へのセットと注意

5-1 カラム部品の接続方式

BioAssist DSカラムはPEEKカラムとなっておりますので、エンドプラグ、フェラルなどは樹脂製のものをご使用ください。金属製の配管部品をご使用になられますとカラムを傷める可能性があります。

5-2 カラムの通液方向

通液方向は、カラム再生など特別な場合を除き、ネームプレートに記載されておりますFlow矢印の方向に通液してください。

5-3 気泡の混入防止

カラムを装置にセットする際、また取りはずす際に、カラム内に空気を入れないように十分注意を払い、必ず装置の全配管系の気泡を除いた後、カラムを装置にセットしてください。カラム内に気泡を入れますとチャネリング等により性能が低下します。

5-4 カラムの接続

5-4-1 エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくる場合

カラムは装置の全配管系の気泡を除いたことを確認して接続しますが、カラムの入口側のエンドプラグをはずしたとき、エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくれば、先に述べたように気泡をカラムに入れないように注意しながら装置にカ

ラムを接続してください。

5-4-2 エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合

カラム入口側のエンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合には、カラム出口側エンドフィッティングと装置とを接続し送液ポンプにより溶媒を送り、逆流しによって入口側エンドフィッティング付近の気泡を溶媒で押し出して下さい。(この際、急激な加圧、あるいは送液により、カラムの性能が低下することがありますので、各カラム適正流速の1/2以下の流速で送り込んで下さい)

5-4-3 気泡が出ないことを確認したら

このようにしてカラム入口側エンドフィッティングより気泡がでないこと、および溶媒がにじみ出ることを確かめたら、カラムを正常な通液方向にして、入口側エンドフィッティングと装置とを接続してください。

5-4-4 装置への接続と注意点

カラムと装置の接続は1/16インチPEEK又はテフロンパイプを用います。配管はエンドフィッティングにしっかりと差し込んでおいた状態でフェラルを固定してください。配管とエンドフィッティングとの間に隙間があると、溶媒の流れが乱れ、分離能が低下します。

5-5 測定開始前

カラムのセット終了後、測定を開始しますが、その際、先に述べましたように急激な加圧、送液によりカラム性能が低下しますので避けてください。特に急激な圧力の立ち上がりを示す送液ポンプは使用しないでください。

5-6 脈動対策

一般にカラムは、脈動に対して影響を受けやすいので、十分に注意してください。送液ポンプは、脈動の少ない液体クロマトグラフィー用送液ポンプを選んでください。

5-7 測定終了後

5-7-1 測定温度が室温より高い場合

測定終了後すぐにポンプを止めないで、カラムの温度が室温に下がるまで送液を続けてください。温度が高い状態でポンプを止めると、溶媒の収縮によりカラム

内に気泡を引き込むことがあります。

5-7-2 短期保存の場合（3日～1週間以内）

有機溶媒を含まない高塩濃度の溶離液を使用している場合は、カラムに蒸留水またはイオン交換水を送液置換後、カラムを装置から取り外し、両末端にエンドプラグをしてください。有機溶媒を含む高塩濃度の溶離液を使用している場合は、カラムに使用溶離液から塩を除いた溶離液を送液置換後、カラムを装置から取り外し、両末端にエンドプラグをしてください。そして全配管系を蒸留水またはイオン交換水で洗浄してください。

4-8-6 長期保存の場合（1週間以上）

カラムを装置に取り付けたまま、全配管系を蒸留水又はイオン交換水を用いて、0.5 mL/min (4.6mmID), 1.5mL/min (10mmID) 以下の流速で置換してください。その後、カラムを装置から取り外し、両末端にエンドプラグをして保管してください。

6. カラムの保管方法

6-1 保管方法

カラムは直射日光及び腐食性ガスを避けて、室温にて、できるだけ温度差の小さい場所に保管してください。カラムを0℃以下の場所に放置した場合には、凍結の可能性がありカラム劣化の原因となりますので、絶対に避けてください。

7. 溶媒の選択

7-1 使用溶媒への置換

カラムは蒸留水で置換され出荷されています。使用される溶媒に置換して使用ください。BioAssist DSカラムはポリマー系ゲルのため、水溶性有機溶媒による膨潤収縮がありますので、有機溶媒を含む溶液への頻繁な置換によりカラム性能が低下することがあります。できるだけ、同一の溶媒をご使用ください。

7-2 使用可能なpH範囲

下記範囲内のpHでご使用ください。

長期：pH 4－11（1週間以上）

短期：pH 3－12（1週間以下）

なおカラム洗浄のために0.1N NaOHをインジェクターより連続注入することは可能です。（13-3参照）

7-3 溶媒選択の注意事項

7-3-1 溶離液の選択

界面活性剤を含有する溶離液を使用される場合、充てん剤への吸着が発生したり、カラム操作圧が上昇する可能性がありますので注意してご使用下さい。また試料のpHおよび塩濃度変化による溶解性に注意して溶離液を選択する必要があります。試料が溶離液により置換された場合、沈殿を生じることがないようにご注意ください。

また有機酸、リン酸緩衝液などを溶離液として使用する場合、菌が発生しやすいので防腐剤を添加していない場合は、使用日毎に作り替えてください。

7-3-2 溶媒の粘度

粘度の高い溶媒を用いる時には、圧力損失が大きくなり、配管、ポンプ、カラムの劣化原因となりますので、ご注意ください。

7-3-3 溶媒の沸点

室温以上でご使用の際は、溶媒の沸点にご注意ください。

7-3-4 有機溶媒の添加

水溶性有機溶媒の添加が可能です。添加量は30%以下としてください。（溶媒液への水溶性有機溶媒の添加においては、緩衝液中の塩が析出しないことを確認してください）

7-3-5 溶媒中の不純物

溶離液に使用した水や試薬中の不純物はゴーストピークの原因となるばかりではなく、カラムを汚染し劣化を早めます。したがって水は超純水、HPLC用蒸留水、注射用蒸留水、イオン交換水などを、有機溶媒はHPLCグレードを使用し、試薬類はHPLCグレードまたは特級品を使用してください。また溶離液はフィルタ（0.22または0.45 μ m）でろ過したものを使用してください。また調製後3日以上経過した溶離液の使用は避けてください。

7-3-6 ラインフィルター

溶離液に含まれる微粒子や不純物のカラム内への進入を防ぐため、インジェクションバルブと送液ポンプの間にハンディフィルタPEEK（品番18014）を取り付けてください。

7-4 脱気操作

溶媒の置換時（特に有機溶媒添加系への置換）および測定時に溶離液から気泡を発生し、カラム内へ気泡が混入することがあります。この気泡の発生を防ぐために、溶離液は十分に脱気をおこなってください。

8. 使用流速

下記に示す適正流速で使用してください。最大流速以上、最大圧力以上でのご使用は絶対に避けてください。

表2 適正流速

	適正流速 (mL/min.)		適正流速 (mL/min.)		最大圧力
	4℃	25℃	4℃	25℃	
4.6mmID×15cm	0.8	1.2	1.0	1.5	1.3MPa
10mmID×15cm	2.4	3.2	3.0	4.0	1.3MPa

8-1 溶媒の粘度

最大使用圧力を上限として、使用流速を調節して使用ください。使用する溶媒の粘度が低ければ流速を高めを設定することができますが、逆に粘度が高い場合は流速を低めに設定してください。

9. 使用温度

4℃～30℃の範囲でご利用ください。

10. 試料溶液の調製

10-1 試料溶液中に不溶分、ゲル分がある場合

遠心分離やマイクロフィルタ（ $0.5\mu\text{m}$ など）によるろ過精製を必ずおこなってください。肉眼では見ることもできなくても、不溶分が存在する可能性があります。またカラムへの不溶分の蓄積をさけるため、インジェクターとカラム入口側の間にハンディフィルタPEEK（品番18014）を取り付けることも有効な手段です。

11. 理論段数および非対称係数の測定

カラムの理論段数、非対称係数および測定条件は、検査票（INSPECTION DATA）記載のとおりです。

11-1 理論段数計算法

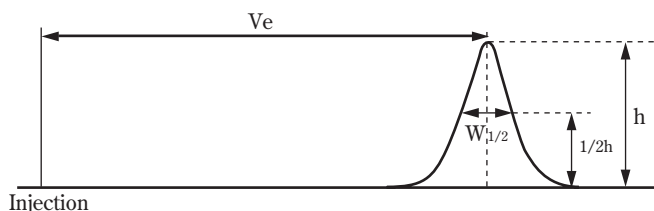


図2 TSK-GEL 理論段数計算法

カラムの理論段数は、半値幅法により計算をおこなっており、カラム当りの段数で表示してあります。

$$N=5.54 (V_e/W_{1/2})^2$$

V_e : 溶出時間 (min)

$W_{1/2}$: ピーク半値幅 (min)

h : ピーク高さ

N : カラム当りの理論段数

11-2 非対称係数計算法

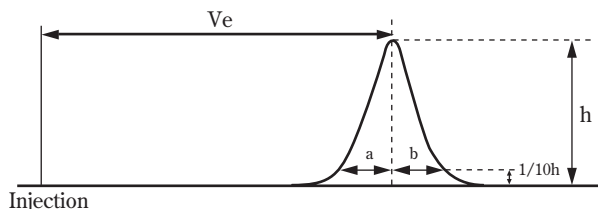


図3 TSK-GEL 非対称係数計算法

カラムの非対称係数は、1/10方法により計算をおこなっています。

$$As = b/a$$

As : 非対称係数

なお、カラム検定は、(デッドボリュームを小さくした) 当社HLC装置で測定しております。

デッドボリュームの大きい装置を使用した場合、あるいは注入量を多くした場合は、規格値よりも低い理論段数を示すことがありますので、注意してください。

12. トラブル発生時の処置法

12-1 カラムエンドフィッティングトラブル

試料を注入後流量が急激に低下した、あるいは同一流量でカラム購入時より圧損が増大した場合、12-1-1～12-1-3項の処置や確認をおこなってください。

12-1-1 つまり物の押し出しまたはエンドフィッティングの交換

カラムを装置より取り外し、出口側エンドフィッティングをポンプ側配管に接続し通常の流速で送液して、入口側エンドフィッティングにつまったものをカラムの外に押し出してください。それでもつまったものがとれない場合、あるいはエンドフィッティングが破損した場合は、12-1-2項の手順に従ってエンドフィッティングの交換をおこなってください。

12-1-2 エンドフィッティングの交換

新しいエンドフィッティングを用意し、つまったエンドフィッティングをカラムより取り外します。この際、ゲルが外部に漏れないよう細心の注意を払ってください。

い、取り外したエンドフィッティングに残っているゲルを、新しいエンドフィッティングに移しカラムに取り付けます。

12-1-3 エンドフィッティングの交換後

交換が終わりましたら、5-4-2項を参考にして、新しいエンドフィッティング側の気泡を取り除いた後、理論段数を測定し、段数の低下が起こっていないか確認してください。

12-2 分離能が急激に低下した場合

カラムの理論段数を測定してください。段数が正常で有れば試料に原因があると思われますので、溶離条件の見直しをおこなってください。もし理論段数が低下していれば、カラムの性能低下と考えられます。

12-2-1 エンドフィッティングにゴミ等がつまり、流路に乱れを生じる場合

12-1項を参考にして、エンドフィッティングの洗浄または交換後、理論段数を測定してください。

12-2-2 カラム入口側のすき間

急激な加圧、最高流速以上の流速がかかった場合、5-6項の脈動対策に関して考慮しなかった場合、あるいは適正值以上の有機溶媒を含む溶媒を流した場合には、カラムの液入口側にすき間が生じる場合があります。

この場合、理論段数の低下が極端に大きく（購入時段数の30%以下）、かつピークが2つに割れたりしますので、入口側エンドフィッティングを取り外してみてください。すき間が空いていましたら、そのカラムは再生不可能です。

12-3 使用中に試料が吸着して溶出しないか、または溶出がいちじるしく遅れる場合

長時間繰り返し使用しているうちに、溶出挙動が著しく変化する場合がありますが、このような現象は、試料中の微量吸着成分が充てん剤表面に蓄積し表面状態が変化したために起こるものと考えられます。このような場合、性質の異なる溶媒で洗浄することにより分離能が回復することがあります。

下記に洗浄の代表例を示します。

カラムの洗浄方法

カラム内を中性付近のリン酸緩衝液に置換した後、サンプルループより下記溶液を注入してください。注入量は4.6mmIDカラムの場合約1 mL、10mmIDカラムの

場合約 5 mLを目安に実施してください。

1. 0.1N NaOH水溶液

2. 水性有機溶媒を添加した水溶液（30%以下で実施してください）

3. 尿素、中性界面活性剤を添加した水溶液

これらの方法を 1 より順におこない、各段階でカラムをチェックしてください。
通常の吸着物質は 1，2 で洗浄できます。

13. 品質規格および保証

13-1 検査票（INSPECTION DATA）

検定条件、検定結果は検査票記載のとおりです。このなかで、理論段数はカラム当たりの理論段数で、圧力は検定流速での圧力を表示してあります。

13-2 品質規格

以下の規格で出荷されております。

表 3 品質規格

品番	品名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	理論段数 (TP/Column)	非対象係数 (As)
21463	TSKgel BioAssist DS	4.6×15	2000以上 5000以下	0.6～1.6
21464	TSKgel BioAssist DS	10×15	2000以上 5000以下	0.6～1.6

13-3 保証

- ① 現品到着後、検査票並びにこの取扱説明書に記載の条件で、カラムの理論段数および非対称係数をチェックしてください。当社の責任で規格値をはずれている場合には良品と交換いたします。
- ② 輸送中の事故などで、カラムの破損が認められる場合には良品と交換いたします。
- ③ 上記、品質不良につきましては現品到着後、2 週間以内にご連絡下さい。
- ④ カラムの寿命については、保証の対象外といたします。
- ⑤ 商品の仕様は、改良のため予告なく変更することがあります。

14. おわりに

本取扱説明書の内容に関して、不明な点あるいはご質問等がありましたら巻末の連絡先にご連絡ください。

以下の名称は東ソー株式会社の登録商標です。

HLC, TSK-GEL, TSKgel, TSKgel SuperMultipore,

BioAssist, Enantio, PStQuick,

エンバイロパック/Enviropak, トヨパール/TOYOPEARL, ToyoScreen,

TOYOPEARL GigaCap, トヨパールメガキャップ/TOYOPEARL MegaCap,

トヨパールパック/TOYOPEARLPAK, TOYOPAK



TOSOH

東ソー株式会社

バイオサイエンス事業部

東京本社 営業部	☎ (03) 5427-5180	〒105-8623	東京都港区芝3-8-2
大阪支店 バイオサイエンスG	☎ (06) 6209-1948	〒541-0043	大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店 バイオサイエンスG	☎ (052) 211-5730	〒460-0003	名古屋市中区錦1-17-13
カスタマーサポートセンター	☎ (0120) 17-1200	〒252-1123	神奈川県綾瀬市早川2743-1

Printed in Japan